

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re U.S. Patent Application of)
)
OKUMURA et al.)
)
Application Number: To be Assigned)
)
Filed: Concurrently Herewith)
)
For: MASS SPECTROMETER AND METHOD OF USE)
)
ATTORNEY DOCKET NO. HITA.0487)

Honorable Assistant Commissioner
for Patents
Washington, D.C. 20231

**REQUEST FOR PRIORITY
UNDER 35 U.S.C. § 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**

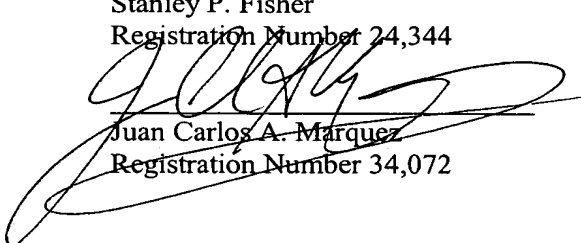
Sir:

In the matter of the above-captioned application for a United States patent, notice is hereby given that the Applicant claims the priority date of February 24, 2003, the filing date of the corresponding Japanese patent application 2003-045345.

A certified copy of Japanese patent application 2003-045345 is being submitted herewith. Acknowledgment of receipt of the certified copy is respectfully requested in due course.

Respectfully submitted,

Stanley P. Fisher
Registration Number 24,344



Juan Carlos A. Marquez
Registration Number 34,072

REED SMITH LLP
3110 Fairview Park Drive
Suite 1400
Falls Church, Virginia 22042
(703) 641-4200
January 5, 2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 2 月 2 4 日
Date of Application:

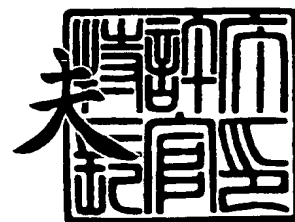
出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 0 4 5 3 4 5
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 3 - 0 4 5 3 4 5]

出 願 人 株式会社日立ハイテクノロジーズ
Applicant(s):

2 0 0 3 年 9 月 2 6 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 7 9 3 9 4

【書類名】 特許願

【整理番号】 NT02P0914

【提出日】 平成15年 2月24日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 27/62

【発明者】

【住所又は居所】 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目 2 8 0 番地 株式会社日立製作所 中央研究所内

【氏名】 奥村 昭彦

【発明者】

【住所又は居所】 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目 2 8 0 番地 株式会社日立製作所 中央研究所内

【氏名】 和氣 泉

【特許出願人】

【識別番号】 501387839

【氏名又は名称】 株式会社日立ハイテクノロジーズ

【代理人】

【識別番号】 100068504

【弁理士】

【氏名又は名称】 小川 勝男

【電話番号】 03-3661-0071

【選任した代理人】

【識別番号】 100086656

【弁理士】

【氏名又は名称】 田中 恭助

【電話番号】 03-3661-0071

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 081423

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】	明細書	1
【物件名】	図面	1
【物件名】	要約書	1
【プルーフの要否】	要	

【書類名】 明細書

【発明の名称】 質量分析装置及び質量分析方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

イオン源で生成したイオンを一定時間蓄積した後、射出するための 3 次元四重極イオントラップと、前記イオントラップから射出された前記イオンをその進行方向に略直交する方向に電場加速し、加速された前記イオンの飛行時間を測定する飛行時間型質量分析計とを有し、かつ、前記イオン源と前記イオントラップとの間に質量フィルターを設けて、前記イオントラップの内部のガス圧と前記質量フィルターの内部のガス圧とを独立に制御するよう構成したことを特徴とする質量分析装置。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の質量分析装置に於いて、前記イオントラップの内部のガス圧が前記質量フィルターの内部のガス圧よりも高く設定されることを特徴とする質量分析装置。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の質量分析装置に於いて、前記質量フィルターを通過して前記イオントラップの内部に蓄積されたイオンを前記イオントラップの内部で分解し、分解生成物を前記飛行時間型質量分析計を用いて質量分析することを特徴とする質量分析装置。

【請求項 4】

請求項 2 に記載の質量分析装置に於いて、前記質量フィルターを通過して前記イオントラップの内部に蓄積されたイオンを前記イオントラップの内部で分解し、分解生成物を前記飛行時間型質量分析計を用いて質量分析することを特徴とする質量分析装置。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の質量分析装置に於いて、前記質量フィルターが 3 段の四重極から構成され、第 2 段目の前記四重極の内部のガス圧を、第 1 段目及び第 3 段目の前記四重極の内部のガス圧よりも低いガス圧に制御するための手段を有するこ

とを特徴とする質量分析装置。

【請求項 6】

請求項 2 に記載の質量分析装置に於いて、前記質量フィルターが 3 段の四重極から構成され、第 2 段目の前記四重極の内部のガス圧を、第 1 段目及び第 3 段目の前記四重極の内部のガス圧よりも低いガス圧に制御するための手段を有することを特徴とする質量分析装置。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の質量分析装置に於いて、質量スペクトルで隣接するピークの間隔が、前記質量フィルターのアイソレーション分解能に基づいて規定された値を超えるピークを、質量スペクトルのピークの中から選択し、選択されたピークに対応するイオンを前記質量フィルターでアイソレーションすることを特徴とする質量分析装置。

【請求項 8】

請求 7 に記載の質量分析装置に於いて、前記選択されたピークがモニター画面上に表示されることを特徴とする質量分析装置。

【請求項 9】

請求項 2 に記載の質量分析装置に於いて、質量スペクトルで隣接するピークの間隔が、前記質量フィルターのアイソレーション分解能に基づいて規定された値を超えるピークを、質量スペクトルのピークの中から選択し、選択されたピークに対応するイオンを前記イオントラップでアイソレーションすることを特徴とする質量分析装置。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の質量分析装置に於いて、前記選択されたピークがモニター画面上に表示されることを特徴とする質量分析装置。

【請求項 11】

イオン源で試料のイオンを生成する工程と、生成した前記イオンを 3 次元四重極イオントラップにより一定時間蓄積した後、射出する工程と、前記イオントラップから射出された前記イオンをその進行方向に略直交する方向に電場加速する飛行時間型質量分析計により、前記イオン及び／又は前記イオンの分解生成物を

質量分析する工程とを有し、かつ、前記イオン源と前記イオントラップとの間に配置される質量フィルターの内部のガス圧と前記イオントラップの内部のガス圧とを独立に制御する制御工程を設けてなることを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載の質量分析方法に於いて、前記制御工程で、前記イオントラップの内部のガス圧が前記質量フィルターの内部のガス圧よりも高く設定されることを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 1 に記載の質量分析方法に於いて、前記質量フィルターを通過して前記イオントラップの内部に蓄積された前記イオンを前記イオントラップの内部で分解して前記分解生成物を生成する工程を有することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 2 に記載の質量分析方法に於いて、前記質量フィルターを通過して前記イオントラップの内部に蓄積された前記イオンを前記イオントラップの内部で分解して前記分解生成物を生成する工程を有することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 1 に記載の質量分析方法に於いて、前記質量フィルターが 3 段の四重極から構成され、第 2 段目の前記四重極の内部のガス圧を、第 1 段目及び第 3 段目の前記四重極の内部のガス圧よりも低いガス圧に制御する工程を有することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 2 に記載の質量分析方法に於いて、前記質量フィルターが 3 段の四重極から構成され、第 2 段目の前記四重極の内部のガス圧を、第 1 段目及び第 3 段目の前記四重極の内部のガス圧よりも低いガス圧に制御する工程を有することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 7】

請求項 1 1 に記載の質量分析方法に於いて、質量スペクトルで隣接するピーク

の間隔が、前記質量フィルターのアイソレーション分解能に基づいて規定された値を超えるピークを、質量スペクトルのピークの中から選択する工程と、選択されたピークに対応するイオンを前記質量フィルターでアイソレーションする工程とを有することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 に記載の質量分析方法に於いて、前記選択されたピークがモニター画面上に表示されることを特徴とする質量分析方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 2 に記載の質量分析方法に於いて、質量スペクトルで隣接するピークの間隔が、前記質量フィルターのアイソレーション分解能に基づいて規定された値を超えるピークを、質量スペクトルのピークの中から選択する工程と、選択されたピークに対応するイオンを前記質量フィルターでアイソレーションする工程とを有することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 9 に記載の質量分析方法に於いて、前記選択されたピークがモニター画面上に表示されることを特徴とする質量分析方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、質量分析技術に係り、特に、イオントラップと飛行時間型質量分析計とを結合した質量分析装置及び質量分析方法に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

ゲノム解読の進展を背景として、生体中の発現タンパクを網羅的に解析するプロテオーム解析が注目されている。質量分析法は、高感度・高スループットなタンパク同定法であり、プロテオーム解析の主要技術の一つである。

【0 0 0 3】

プロテオーム解析の手順は、次の通りである。まず、タンパクを酵素消化して得られるペプチド断片の分子量を計測する。次に、得られたペプチド断片を質量

分析計の内部でさらに細かく断片化し、各断片の分子量を計測する。元のペプチド、及び、その断片の分子量を基にデータベース検索することにより、元のタンパクを特定する。

【0004】

質量分析計内部で試料を断片化し、断片の質量分析を行う手法はMS/MS分析と呼ばれ、プロテオーム解析に必須の技術である。

【0005】

MS/MS分析の可能な質量分析計として、イオントラップ型質量分析計が知られている（例えば、特許文献1参照）。このイオントラップ型質量分析計では、イオントラップを構成するリング電極と一対のエンドキャップ電極間にRF電圧を印加し、イオントラップ内部に四重極電場を形成することによってイオンを捕捉・蓄積する。この時、イオントラップ内部にヘリウム等の中性ガスを導入しておくことにより、イオントラップに入射したイオンがガスとの衝突により運動エネルギーを失うことにより、イオントラップに捕捉される効率が向上する。イオンを蓄積した後、RF電圧の振幅を走査して質量対電荷比（ m/z ）の小さいイオンから順にイオントラップ外部に排出して検出することにより質量スペクトル（MSスペクトル）が得られる。

【0006】

イオントラップ型質量分析計によるMS/MS分析は、次の手順で行われる。まず、イオントラップにイオンを蓄積して前述した手順により質量スペクトルを得る。得られた質量スペクトルの中から分解すべきイオン（前駆イオン、または親イオン）を選定する。次に、イオントラップ内部に再度イオンを蓄積した後、親イオンのみを残して他のイオンをイオントラップから排除する。この操作は、一般にアイソレーションと呼ばれる。

【0007】

親イオンのアイソレーションは、例えば、2個のエンドキャップ電極に互いに位相反転した補助交流電圧を印加する方法が知られている。補助交流電圧を印加すると、その周波数に対応した m/z のイオンの運動エネルギーが増大し、補助交流電圧の振幅がある程度の大きさを超えると、イオンの軌道が不安定化してイ

オントラップ内部空間から排除される。

【0008】

次に、イオントラップ内部に残った親イオンを分解する。イオンの分解は、通常、衝突誘起解離（CID；Collision Induced Dissociation）により行う。CIDでは、イオントラップ内部にターゲットガスとしてヘリウム等の中性ガスを導入しておき、2個のエンドキャップ電極間に補助交流電圧を印加して、親イオンの運動エネルギーを増大させてターゲットガスと衝突させることにより、親イオンを分解する。当然のことであるが、このターゲットガスはイオンの捕捉効率を向上させるためのバッファーガスも兼ねている。

【0009】

CIDにより生成されたフラグメントイオンの全部、又は、一部はそのままイオントラップ内部に捕捉、蓄積されるので、最後に、RF電圧を走査して蓄積したフラグメントイオンをその質量対電荷比（ m/z ）の小さい順に排出して検出することによりフラグメントイオンの質量スペクトル（MS/MSスペクトル）を得ることができる。

【0010】

イオントラップ型質量分析計では、フラグメントイオンの中からさらに親イオンを選定して、これをさらに細かく分解して質量分析する MS^n （ $n > 2$ ）分析が可能である。 MS^n 分析を用いると、元のイオンについてのより詳細な構造情報を得られる利点がある。 MS^n 分析は、次の手順で行われる。まず、 $MS^{(n-1)}$ 分析を行い、得られた質量スペクトル（ $MS^{(n-1)}$ スペクトル）の中から親イオンを選定する。

【0011】

次に、再度 $MS^{(n-1)}$ スペクトルを得る直前の操作までを繰り返す。次に、親イオンのアイソレーションと分解を行った後に、得られたフラグメントの質量スペクトル（ MS^n スペクトル）を得る。

【0012】

四重極フィルターをイオントラップの前段に配置した構成が知られている（例えば、特許文献2参照）。この四重極フィルター部でアイソレーションを行うこ

とが可能なため、イオンの蓄積とアイソレーションを同時進行させることができるため、イオン取り込みの有効時間比（デューティレシオ）が向上し、MS/M S 分析における検出感度が向上する。

【0 0 1 3】

イオントラップと飛行時間型質量分析計（TOFMS ; Time of Flight Mass Spectrometer）とを、イオンの進行方向に対して直交する方向に結合した装置が知られている（例えば、特許文献 3 参照）。この装置では、イオントラップを用いてイオンの蓄積とアイソレーション、及び、CIDを行い、質量分析は飛行時間型質量分析計を用いて行われる。この装置による質量分析の手順は次の通りである。イオントラップにイオンを蓄積した後、RF 電圧の印加を停止し、イオントラップ内部に静電場を形成して蓄積したイオンを射出する。射出されたイオンは高真空に排気された飛行時間型質量分析計内部に到達する。飛行時間型質量分析計内で、イオンの進行方向に対して直交する方向に電場加速して飛行時間時間測定を行う。

【0 0 1 4】

【特許文献 1】

米国特許第 2 9 3 9 9 5 2 号

【特許文献 2】

米国特許第 5 5 7 2 0 2 2 号

【特許文献 3】

特開 2 0 0 1 - 2 9 7 7 3 0 号公報

【0 0 1 5】

【発明が解決しようとする課題】

先に説明したように、イオントラップ型質量分析計では、イオンの捕捉効率の向上と CID を行なうという 2 つの目的のために、イオントラップ内部に中性ガスを導入しておく必要がある。この中性ガスの圧力は、イオンの捕捉効率、及び、CID 効率に影響を与えるばかりでなく、質量スペクトルの質量分解能とアイソレーションにおける質量分解能（アイソレーション分解能）に影響を与える。

【0 0 1 6】

図2は、本発明の課題を説明するための図であり、従来技術（特許文献1）に於けるイオントラップ型質量分析計の諸性能の、イオントラップの内部のガス圧に対する依存性と、動作ガス圧を示す模式図である。図2の横軸はイオントラップの内部のガス圧、縦軸は諸性能の高低（高いほど性能が優れる）を示す。図2では、CID効率101、イオンの捕捉効率102、質量分解能103及びアイソレーション分解能104のガス圧依存性が模式的に示されている。質量分解能103とアイソレーション分解能104は、ガス圧が高いほど低下し、イオン捕捉効率102とCID効率101には最適ガス圧が存在する。しかし、CID効率101、イオン捕捉効率102、質量分解能103、及び、アイソレーション分解能104の全てが最大となるガス圧は存在しない。そこで通常は、イオン捕捉効率102と質量分解能103とを重視して、図2に示すように、イオン捕捉効率102と質量分解能103とを両立させ得るガス圧領域105を設定してイオントラップを動作させる。

【0017】

通常のイオントラップのデューティレシオは、イオン蓄積に100ms、アイソレーションに20ms、CIDに30ms、質量スペクトル掃引に200msを必要とする典型的な場合で考えると、

$$(100\text{ms}) / (100\text{ms} + 20\text{ms} + 30\text{ms} + 200\text{ms}) = 0.285$$

となる。従来技術（特許文献2）によれば、イオン蓄積とアイソレーションとを同時に実施できるので、デューティレシオは、

$$(100\text{ms}) / (100\text{ms} + 30\text{ms} + 200\text{ms}) = 0.303$$

となる。デューティレシオは、0.285から0.303へと、僅かに改善されることになる。また、親イオンのみがイオントラップに導入されるので、単位時間当りのイオン入射量が減少し、イオントラップがイオンで満杯になるまでのイオン蓄積時間が長くなることによって、デューティレシオが向上し、結果的に検出感度が向上する効果もある。

【0018】

例えば、イオントラップが空間電荷効果で満杯になるまでのイオン蓄積時間を

500msに延ばすことが可能になれば、デューティレシオは、

$$(500\text{ms}) / (500\text{ms} + 30\text{ms} + 200\text{ms}) = 0.684$$

にまで改善される。従って、感度も $0.684 / 0.285 = 2.4$ 倍向上することが期待できる。上記より、イオントラップ質量分析計でのデューティレシオ低下の主な原因となっているのは、質量走査による不感時間が200ms程度と比較的に長いことが原因となっていることが判る。

【0019】

しかし、従来技術（特許文献2）では、質量分解能、CID効率、及び、イオン捕捉効率のガス圧依存性は、特許文献1のイオントラップ型質量分析計の場合と変わらず、全項目が最適となるガス圧は存在しない。従って、ガス圧設定値は従来技術（特許文献1）のイオントラップ型質量分析計の場合と同様である。

【0020】

従来技術（特許文献3）の方式では、特許文献2が解決しようとした、デューティレシオの改善の課題は、イオントラップの前段に四重極フィルター部が無くても、TOF質量分析の高速性により、自動的に解決されている。すなわち、イオン蓄積に100ms、アイソレーションに20ms、CIDに30msだけ必要な場合にでも、質量スペクトル掃引に要する時間はTOF方式では、1ms以下である。従って、デューティレシオは、四重極フィルターを使わずとも、既に、

$$(100\text{ms}) / (100\text{ms} + 20\text{ms} + 30\text{ms} + 1\text{ms}) = 0.662$$

に達しており、アイソレーション時間を省略し、もしくは、イオン蓄積時間をさらに延ばしてデューティレシオを1に近づけても、このデューティレシオ効果のみによる全体としての感度向上は、四重極フィルターを設置することによる装置の複雑化、コストアップ等の課題に比べて、効果は小さい。すなわち、従来技術（特許文献3）では、従来技術（特許文献2）のデューティレシオ改善の為の知見からのみでは、四重極フィルターをイオントラップ飛行時間分析部の前段に設置する必然性は無い。

【0021】

一方、飛行時間型質量分析計の質量分解能は、イオンの初期状態、すなわち、

加速電場を印加する瞬間における、加速方向に関するイオンの空間広がり、及び、エネルギー広がりが小さいほど高い。このイオンの空間広がり、及び、エネルギー広がりはイオントラップ内部のガス圧が高いほど小さい。何故ならば、イオントラップ内部のガス圧が高いほどイオントラップ内部でのイオンの空間的、及び、エネルギー的広がりが小さいため、イオントラップから射出したイオンの進行方向に直交する方向に関する空間的、及び、エネルギー的広がりを容易に抑制できるためである。従って、イオントラップ型質量分析計とは異なり、イオントラップ内部のガス圧が高いほど質量分解能が高いという特徴がある。

【0022】

図3は、本発明の課題をさらに説明するための図であり、先述した従来技術（特許文献3）に於ける、イオントラップと飛行時間型質量分析計とを結合した質量分析装置の諸性能の、イオントラップの内部のガス圧に対する依存性と、動作ガス圧を示す模式図である。図3の横軸はイオントラップの内部のガス圧、縦軸は諸性能の高低（高いほど性能が優れる）を示す。図3では、CID効率101、イオンの捕捉効率102、質量分解能103、及び、アイソレーション分解能104のガス圧依存性を模式的に示している。図3から判るように、イオン捕捉効率102、質量分解能103、及び、CID効率101が同時にほぼ最大となるガス圧領域が存在する。従って、図3に示すように、イオン捕捉効率102、質量分解能103、CID効率101、アイソレーション分解能104のそれぞれを両立させ得るガス圧領域105を設定してイオントラップを動作させる。

【0023】

しかし、アイソレーション分解能104は、イオントラップ型質量分析計と同様に、ガス圧が高いほど低下する。そのため、アイソレーション分解能104、イオン捕捉効率102、質量分解能103、及び、CID効率101の全てが最適となるガス圧は存在しないという課題を、特許文献3は抱えている。

【0024】

先に説明したように、イオントラップ型質量分析計では、イオントラップ内部にCIDのターゲットガス、及び、イオン捕捉効率を向上させるためのバッファーガスとしてヘリウム等の中性ガスを導入しておく必要がある。CID効率、及

び、イオン捕捉効率はそれぞれガス圧に依存し、何れも最適値が存在する。

【0025】

ところが、質量分解能とアイソレーション分解能はガス圧が高いほど低下する。そのためイオン捕捉効率、質量分解能、アイソレーション分解能、及び、CID効率を、同時にほぼ最大とするようなガス圧が存在しない。

【0026】

従来技術（特許文献2）では、イオントラップの前段に四重極フィルターを配置して四重極部においてアイソレーションを行うことができるため、アイソレーション分解能は、イオントラップ内部のガス圧には依存しない。しかし、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、CID効率が同時にほぼ最大となるようなガス圧は存在しない。

【0027】

従来技術（特許文献3）のイオントラップと飛行時間型質量分析計とを結合した質量分析計では、従来技術（特許文献1）、及び、従来技術（特許文献2）の装置とは異なり、ガス圧が高いほど質量分解能が高いという特徴がある。しかし、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、アイソレーション分解能を同時に最大とするようなガス圧は存在しない。

【0028】

本発明の目的は、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、CID効率を同時にほぼ最大にし得る、イオントラップと飛行時間型質量分析計とを結合した質量分析装置及び質量分析方法を提供することにある。

【0029】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するために、本発明では、イオントラップと飛行時間型質量分析計とを非同軸に、例えば、イオンの進行方向に略直交する方向に結合した質量分析装置にあって、イオントラップの前段に質量フィルター（例えば、四重極フィルター）を配置し、質量フィルター部においてアイソレーションを行う。質量フィルター内部のガス圧とイオントラップ内部のガス圧とを互いに独立に制御し、質量フィルター内部のガス圧を、アイソレーション分解能に関して最適化し、

イオントラップ内部のガス圧を、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、CID効率が同時にほぼ最大となるように最適化する。

【0030】

本発明の質量分析装置では、イオン源で生成したイオンを一定時間蓄積した後、射出するための3次元四重極イオントラップと、前記イオントラップから射出された前記イオンをその進行方向に略直交する方向に電場加速し、加速された前記イオンの飛行時間を測定する飛行時間型質量分析計とを有し、かつ、前記イオン源と前記イオントラップとの間に質量フィルターを設けて、前記イオントラップの内部のガス圧と前記質量フィルターの内部のガス圧とを独立に制御するように構成する。

【0031】

イオントラップの内部のガス圧は、質量フィルターの内部のガス圧よりも高く設定され、質量フィルターを通過してイオントラップの内部に蓄積されたイオンをイオントラップの内部で分解し、分解生成物を飛行時間型質量分析計を用いて質量分析する。質量フィルターは、3段の四重極から構成され、第2段目の四重極の内部のガス圧は、第1段目及び第3段目の四重極の内部のガス圧よりも低いガス圧に制御される。質量スペクトルで隣接するピークの間隔が質量フィルターのアイソレーション分解能に基づいて規定された値を超えるピークが、質量スペクトルのピークの中から選択され、選択されたピークに対応するイオンが質量フィルターでアイソレーションされる。この選択されたピークはモニター画面上に表示される。

【0032】

本発明の質量分析方法は、イオン源で試料のイオンを生成する工程と、生成した前記イオンを3次元四重極イオントラップにより一定時間蓄積した後、射出する工程と、前記イオントラップから射出された前記イオンをその進行方向に略直交する方向に電場加速する飛行時間型質量分析計により、前記イオン及び／又は前記イオンの分解生成物を質量分析する工程とを有し、かつ、前記イオン源と前記イオントラップとの間に配置される質量フィルターの内部のガス圧と前記イオントラップの内部のガス圧とを独立に制御する制御工程を設ける。

【0033】

制御工程では、イオントラップの内部のガス圧が質量フィルターの内部のガス圧よりも高く設定される。本発明の方法は、質量フィルターを通過してイオントラップの内部に蓄積されたイオンをイオントラップの内部で分解して分解生成物を生成する工程を有する。また、質量フィルターが3段の四重極から構成され、第2段目の四重極の内部のガス圧を、第1段目及び第3段目の四重極の内部のガス圧よりも低いガス圧に制御する工程を有する。さらに、質量スペクトルで隣接するピークの間隔が質量フィルターのアイソレーション分解能に基づいて規定された値を超えるピークを、質量スペクトルのピークの中から選択する工程と、選択されたピークに対応するイオンを質量フィルターでアイソレーションする工程とを有し、選択されたピークがモニター画面上に表示される。

【0034】**【発明の実施の形態】**

図1は、本発明の一実施例になる質量分析装置の構成例を示す図である。

【0035】

試料は大気圧イオン源1でイオン化される。イオン源1で生成したイオンは、サンプリングオリフィス2を通過して、第1真空室3に入射し、次に、第2真空室4に入射する。イオンは、第2真空室4の内部に収納された、質量フィルター（例えば、四重極フィルター）8、及び、ゲート電極19を通過する。次に、イオンは、第3真空室5の内部に入射し、その内部に収納された3次元四重極イオントラップ9に入射する。この時、ゲート電極19には、イオンの通過が可能なような電圧を印加しておく。

【0036】

イオントラップの内部には、配管17を通して中性ガス（ヘリウム、窒素、又は、アルゴン等）が導入されており、イオントラップ内部に入射したイオンは、中性ガスとの衝突を繰り返して運動エネルギーを失いながら、イオントラップの中心付近に捕捉される。イオントラップ内部のガス圧は、バルブ15によりガスを流量を調節することにより制御される。

【0037】

四重極フィルター 8 は、筐体 20 内部に収納され、筐体 20 の内部に、ガス管 16 を通して中性ガス（ヘリウム、窒素、又は、アルゴン等）が導入される。四重極フィルター 8 は、イオンビームを収束させることによって、イオントラップ 9 へのイオン導入量を向上させる作用もあるため、ある程度のガス圧が必要である。四重極フィルター 8 の内部のガス圧は、バルブ 14 によりガス管 16 のガス流量を調節して制御される。

【0038】

このようにして、一定時間だけイオンをイオントラップ 9 の内部に導入してイオンを蓄積した後、直流電源 51 から 50 にスイッチ 52 を切替えて、ゲート電極 19 の電圧をイオンが通過不能な値に切替えることにより、イオントラップ 9 へのイオンの導入を停止する。

【0039】

イオントラップは、一対のエンドキャップ電極 23 及び 25 と、リング電極 24 とで構成され、イオンを蓄積する間はリング電極 24 に RF 電圧を印加し、エンドキャップ電極 23、25 の電位は 0 V とする。イオントラップに蓄積したイオンを質量分析する場合には、交流電源 42 から直流電源 41 に、RF 電源から直流電源 43 に、交流電源 45 から直流電源 44 に、スイッチ 48 を切替えることにより、リング電極 24 への RF 電圧の印加を停止すると同時に、2 個のエンドキャップ電極 23、25 とリング電極 24 にそれぞれ適当な直流電圧を印加して、イオンを排出するための静電場を形成する。

【0040】

イオンはイオントラップから排出され、第 4 真空室 7 に入射する。第 4 真空室に入射したイオンはその内部に収納された直交加速部 18 の内部空間を飛行する。直交加速部 18 の内部空間をイオンが通過する間に、直流電源 47 から 46 にスイッチ 49 を切替えて加速電極 21 に 1 kV ～ 10 kV 程度のパルス電圧を印加し、イオンの飛行方向と直交する方向にイオンを電場加速する。加速されたイオンは、電極 22 と電極 11 との間でさらに加速され、電極 11 で囲まれた無電場空間を飛行して、リフレクトロン 12 に入射する。

【0041】

なお、第1真空室3、第2真空室4、第3真空室5、第4真空室7は、独立に排気されている。

【0042】

リフレクトロン12の内部でイオンは反転し、再び、無電場空間を飛行して検出器13に到達する。直交加速部18にパルス電圧を印加してからイオンが検出器3に到達するまでの飛行時間を測定する。飛行時間がイオンの m/z に依存することを利用して質量スペクトルが得られる。

【0043】

制御部70は、スイッチ48、49、52を切り替えるタイミングを制御する。また、制御部70は、電源60を制御して四重極フィルター8の動作モードを制御する。

【0044】

四重極フィルター8を構成する電極への電圧印加方法によって、四重極フィルター8は、イオンガイドとして動作させたり、質量フィルターとして動作させることが可能である。

【0045】

MS分析を行う場合には、四重極フィルター8をイオンガイドとして動作させ、全 m/z 範囲のイオンをイオントラップ9に導入する。MS/MS分析では、イオントラップ9にイオンを蓄積する間、四重極フィルター8をバンドパスフィルターとして動作させて、親イオンのみをイオントラップ9に導入する。その後、イオントラップ9の内部に蓄積したイオンをCIDにより分解し、イオントラップに蓄積された分解生成物イオンを、MS分析の場合と同様の手順により質量分析する。

【0046】

イオントラップ9にイオン射出用の直流電圧を印加してから直交加速部18にパルス電圧を印加するまでの間に、次のイオン蓄積が開始される。このインターバルは、通常 $10\mu s \sim 50\mu s$ 程度であるのに対して、イオン蓄積時間は、 $10ms \sim 1s$ 程度であるので、このインターバルによる試料の損失は殆ど無視できる程度である。

【0047】

各真空室の真空排気速度、隣接する真空室の間のイオン通過口の口径、及び、サンプリングオリフィス2（大気圧の空間と第1真空室3の間のイオン通過口）の口径等を調節し、さらに、バルブ15によりガス流量を調節することにより、イオントラップ9の内部のガス圧を、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、CID効率がほぼ最大となるようなガス圧 P_{max} （ $10^{-1} \text{ Torr} \sim 10^{-2} \text{ Torr}$ 程度）に、また、バルブ14によりガス流量を調節することにより、四重極フィルター8の内部のガス圧を P_{max} 以下のガス圧に設定することができる。

【0048】

従来技術よりも高いガス圧領域でイオントラップを動作させるので、第3真空室5を排気する排気系（図示せず）の排気能を大きくするか、第4真空室7の排気系（図示せず）の排気能を大きくして、飛行時間型質量分析計が配置される第4真空室7の真空度が、飛行時間型質量分析計が十分にその性能を発揮できる真空度に保持される。

【0049】

図4（A）は、本発明の実施例の質量分析装置の諸性能（イオン捕捉効率、質量分解能、及び、CID効率）の、イオントラップの内部のガス圧に対する依存性と、動作ガス圧範囲を示す模式図である。図4（A）の横軸はイオントラップの内部のガス圧、縦軸は諸性能の高低（高いほど性能が優れる）を示す。また、図4（B）は、アイソレーション分解能の四重極フィルターの内部のガス圧に対する依存性と、動作ガス圧範囲を示す図である。図4（B）の横軸は四重極フィルターの内部のガス圧、縦軸は諸性能の高低（高いほど性能が優れる）を示す。

【0050】

本発明の実施例では、イオン捕捉効率102、質量分解能103、及び、CID効率101の、全て、又は、1つ又は2つが、最大となる圧力領域105、又は、最大となる圧力領域の近傍のガス圧領域105でイオントラップ9を動作させる。四重極フィルター8を動作させるガス圧領域が、イオントラップ9を動作させるガス圧領域105とは、独立に設定され制御され、アイソレーション分解能に関して最適化される。四重極フィルター8を動作させるガス圧領域105'

は、イオントラップ9を動作させるガス圧領域105よりも低い圧力領域に設定され、制御される。

【0051】

図5は、本発明の他の実施例になる質量分析装置の構成例を示す図である。四重極内部のガス圧が低いほどアイソレーション分解能が向上するが、四重極は、イオンビームを径方向に収束させることにより、イオントラップ9へのイオン入射量を増加させる作用をもつ。この作用を有効に利用するには、ある程度のガス圧($10^{-3}\text{Torr} \sim 10^{-4}\text{Torr}$ 程度)が必要である。このジレンマを解決するために、図1に示す構成の一部を変更して、図5に示すように、四重極部を、分割された四重極8-1、8-2、8-3により構成する。

【0052】

制御部70は、図1の構成と同様に、スイッチ48、49、52を切り替えるタイミングを制御する。また、制御部70は、電源60を制御して四重極8-1、8-2、8-3の動作モードを制御する。

【0053】

1段目の四重極8-1は、筐体20内部に収納され、筐体20の内部に、ガス管123を通して中性ガス(ヘリウム、窒素、又は、アルゴン等)が導入される。四重極8-1の内部のガス圧は、バルブ124によりガス管123のガス流量を調節して制御される。3段目の四重極8-3は、筐体20内部に収納され、筐体20の内部に、ガス管16を通して中性ガス(ヘリウム、窒素、又は、アルゴン等)が導入される。四重極8-3の内部のガス圧は、バルブ14によりガス管16のガス流量を調節して制御される。

【0054】

図5に示す構成に於いても、図4に示す、イオン捕捉効率102、質量分解能103、及び、CID効率101の、全て、又は、1つ又は2つが、最大となる圧力領域105、又は、最大となる圧力領域の近傍のガス圧領域105でイオントラップ9を動作させる。

【0055】

四重極8-1、8-2、8-3を動作させるガス圧領域は、イオントラップ9

を動作させるガス圧領域 10^5 とは、独立に設定され制御され、アイソレーション分解能に関して最適化される。従来技術よりも高いガス圧領域でイオントラップを動作させるので、図3に示す構成で、第3真空室5を排気する排気系（図示せず）の排気能を大きくするか、第4真空室7の排気系（図示せず）の排気能を大きくして、飛行時間型質量分析計が配置される第4真空室7の真空度を、飛行時間型質量分析計が十分にその性能を発揮できる真空度に保持される。

【0056】

図5に示す構成例では、第3真空室5と第4真空室7の間に、さらに、第5真空室6を設けており、第1真空室3、第2真空室4、第3真空室5、第4真空室7、第5真空室6はそれぞれ、独立に排気され、第4真空室7の真空度を、飛行時間型質量分析計が十分にその性能を発揮できる真空度に保持される。

【0057】

中間部（2段目）の四重極8-2の内部のガス圧を極力低く（ 10^{-3} Torr $\sim 10^{-4}$ Torr 程度）してアイソレーションに用い、両端部（1段目及び3段目）の四重極8-1、8-3の内部のガス圧Pを、イオンビームの収束に必要なガス圧（ 10^{-1} Torr $\sim 10^{-2}$ Torr 程度）に設定することが可能である。

【0058】

バルブ124、14の開閉制御によって、四重極8-2の内部のガス圧を、四重極8-1、8-3の内部のガス圧よりも低いガス圧に制御できる。

【0059】

1段目の四重極8-1によりイオンビームは収束するが、1段目と2段目の四重極8-2との境界部でイオンビームが広がる可能性がある。3段目の四重極8-3は広がったイオンビームを再び収束させる作用を持つ。

【0060】

MS/MS分析を行う場合には、まず、MS分析を行い質量スペクトルを取得する。得られたスペクトル中のピークの中から親イオンを選択する。次に、イオントラップにイオンを蓄積する間、四重極を選択された親イオンのみが通過するようなバンドパスフィルターとして動作させる。

【0061】

図6は、本発明の実施例に於いて、MS/MS分析を行う動作シーケンス例を示す図であり、イオントラップ及び四重極の動作シーケンスの一例を示す図である。図6(A)はイオントラップの動作シーケンスを、図6(B)は四重極の動作シーケンスを示す。

(1) 一定時間だけイオントラップにイオンを蓄積し、蓄積したイオンを質量分析する(図6(A)中、MS)。この時、四重極ではアイソレーションを行わない。図6(C)は、得られる質量分析スペクトルである。

(2) 四重極を用いてアイソレーションを行いながら、質量対電荷比(m/z)がM1であるイオンのみを一定時間だけイオントラップに蓄積する。次に、蓄積されたイオンをCIDにより分解し分解生成物を質量分析する(図6(A)中、MS²(1st))。

(3) (2)と同様にして、 $m/z = M2$ であるイオンをMS/MS分析する(図6(A)中、MS²(2nd))。

【0062】

このようにして、 $m/z = M_n$ のイオンまでMS/MS分析する。M1~Mnは、(1)で得られた質量スペクトルの中から、例えば、ピーク強度の大きい順に選択する。nの値は予め使用者(測定者)が設定する。なお、通常は、質量スペクトルのS/N比を向上させるために各シーケンスをそれぞれ複数回繰り返して質量スペクトルを積算する。

【0063】

MS/MS分析では、アイソレーションは全て低ガス圧の四重極部で行うことが可能なため、イオンの捕捉効率、質量分解能、及び、CID効率を損なうことなく、アイソレーション分解能を向上できる。また、イオン蓄積とアイソレーションとが同時進行するためにデューティレシオが向上し、その結果として、検出感度が向上する効果も同時に得られる。

【0064】

図7は、本発明の実施例に於いて、MSⁿ($n > 2$)分析を行う動作シーケンス例を示す図であり、イオントラップ及び四重極の動作シーケンスの一例を示す図である。図7(A)はイオントラップの動作シーケンスを、図7(B)は四重

極の動作シーケンスを示す。

(1) $MS^{(n-1)}$ 分析を行う。

(2) 四重極部でアイソレーションを行いながら、質量対電荷比 (m/z) が $M1$ であるイオンのみを一定時間だけイオントラップに蓄積し、蓄積されたイオンを CID により分解する。

(3) フラグメントイオンの中から、例えば、質量対電荷比 (m/z) が $M2$ であるイオンをイオントラップ内部でアイソレーションし、これを CID により分解する。

(4) (3) の操作を $(n-1)$ 回繰り返す。

(5) フラグメントイオンを質量分析する。

【0065】

MS^n ($n > 2$) 分析の場合には、1 回目のアイソレーションは、四重極部で行う (図 7 (B))。イオン蓄積をした後、1 回目の CID を行う (図 7 (A))。次に、2 回目のアイソレーションはイオントラップ内部で行い、その後、2 回目の CID を行う (図 7 (A))。その後、この動作シーケンスを繰り返す。

【0066】

一般に、1 回目のアイソレーションでは、ランダムなノイズイオンや他のペプチド断片、あるいは、溶媒由来イオンを除去する必要があるため、高いアイソレーション分解能が望まれるが、2 回目以降のアイソレーションでは、1 回目になれば要求されるアイソレーション分解能は高くない。従って、イオントラップ内部のガス圧は、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、 CID 効率が最大となるようなガス圧に設定することができる。

【0067】

親イオンの選択は、マニュアル選択又は自動選択の何れかで行うことができる。自動選択の場合には、ソフトウェアによりピーク強度の高いものから順にソフトウェアにより指定された数だけ選択するのが一般的である。しかし、選択されたピークの極く近傍に、アイソレーションでは十分に除去できない隣接ピークが存在する場合がある。この場合、フラグメントの質量スペクトルを誤解釈し、元のイオンの同定を間違える可能性がある。そこで、装置のアイソレーション分解

能に基づいて、そのピークの近傍に除去できないピークが存在するか否かを判定し、存在する場合にはそのピークを選択しないようにすれば、このような間違いを防ぐことができる。なお、当然のことながら、四重極フィルターでアイソレーションを行う場合と、イオントラップでアイソレーションを行う場合とではアイソレーション分解能が異なるので、判定の基準が異なる。

【0068】

図8は、本発明の実施例に於いて、前駆イオンを選定するために表示するモニター画面の例を示す図である。図8は、装置のモニター画面上に表示される画面の例であり、親イオンの選択結果を示す質量スペクトルである。①～④までの番号を付したピークが親イオンとして選択されたピークである。番号が付されていない2本のピーク（×印で図示）は、装置の有するアイソレーション分解能では、分離できないために選択から除外されている。

【0069】

図8では、番号はピーク強度の強い順に付けられているが、例えば、 m/z の小さい順に付けても良い。マニュアル測定の場合には、MS/MS、又は、MSⁿ分析の前に、図8に示すような質量スペクトルがモニター画面上に表示される。番号の付いたピークは親イオンの候補であり、実際にどのピークをMS/MS、又は、MSⁿ分析するかは測定者が選択する。

【0070】

イオントラップと飛行時間型質量分析計とを非同軸に結合した質量分析装置において、イオントラップの前段に四重極を配置して、四重極部においてアイソレーションを行う。このような配置により、イオントラップ内部のガス圧を、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、CID効率が、同時にほぼ最大となるような領域に設定できる。一方、四重極部のガス圧を、アイソレーションに適した比較的低いガス圧に設定できる。

【0071】

この結果、アイソレーション分解能を損なうことなく、検出感度、質量分解能、及び、CID効率を向上させることができる。このような性能が向上した質量分析装置を使用することにより、特にプロテオーム解析における解析効率が向上

する。

【 0 0 7 2 】

【発明の効果】

本発明によれば、イオン捕捉効率、質量分解能、及び、C I D効率を同時にほぼ最大にし得る、イオントラップと飛行時間型質量分析計とを非同軸に結合した質量分析装置及び質量分析方法を実現できる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の一実施例になる質量分析装置の構成例を示す図。

【図 2】

従来技術に於けるイオントラップ型質量分析計の諸性能の、イオントラップの内部のガス圧に対する依存性と動作ガス圧範囲を示す模式図。

【図 3】

従来技術に於ける、イオントラップと飛行時間型質量分析計とを非同軸に結合した質量分析装置の諸性能の、イオントラップの内部のガス圧に対する依存性と動作ガス圧範囲を示す模式図。

【図 4】

本発明の実施例の質量分析装置の諸性能の、（A）イオントラップの内部のガス圧に対する依存性と動作ガス圧範囲を示し、（B）四重極フィルターの内部のガス圧に対する依存性と動作ガス圧範囲を示す模式図。

【図 5】

本発明の他の実施例になる質量分析装置の構成例を示す図。

【図 6】

本発明の実施例に於いて、MS / MS 分析を行う動作シーケンス例を示す図。

【図 7】

本発明の実施例に於いて、 MS^n ($n > 2$) 分析を行う動作シーケンス例を示す図。

【図 8】

本発明の実施例に於いて、前駆イオンを選定するために表示するモニター画面

の一例を示す図。

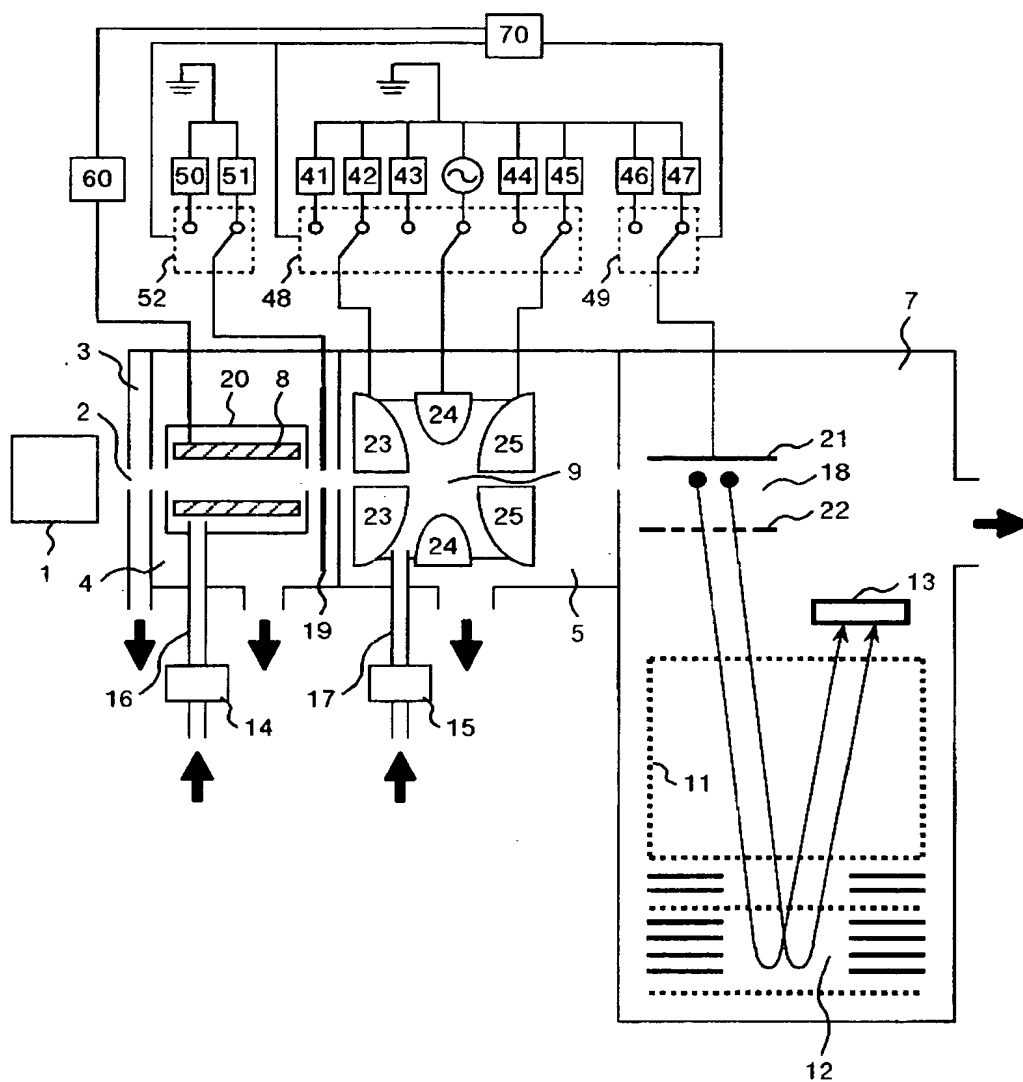
【符号の説明】

1…イオン源、2…サンプリングオリフィス、3…第1真空室、4…第2真空室、5…第3真空室、6…第5真空室、7…第4真空室、8…四重極フィルター、9…イオントラップ、11…電極、12…リフレクトロン、13…検出器、14、15…バルブ、16、17…ガス管、18…直交加速部、19…ゲート電極、20…筐体、21…加速電極、22…電極、23、25…エンドキャップ電極、24…リング電極、41、43、44、46、47…直流電源、42、45…交流電源、48、49、52…スイッチ、50、51…直流電源、60…電源、70…制御部、123…ガス管、124…バルブ、101…CID効率、102…イオン捕捉効率、103…質量分解能、104…アイソレーション分解能、105…イオントラップを動作させるガス圧領域、105'…四重極フィルターを動作させるガス圧領域。

【書類名】 図面

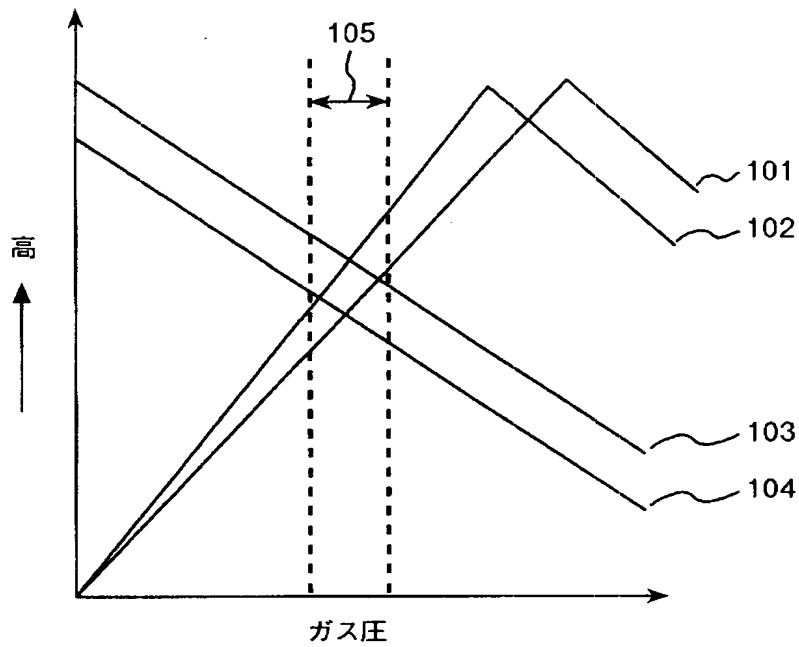
【図 1】

図 1



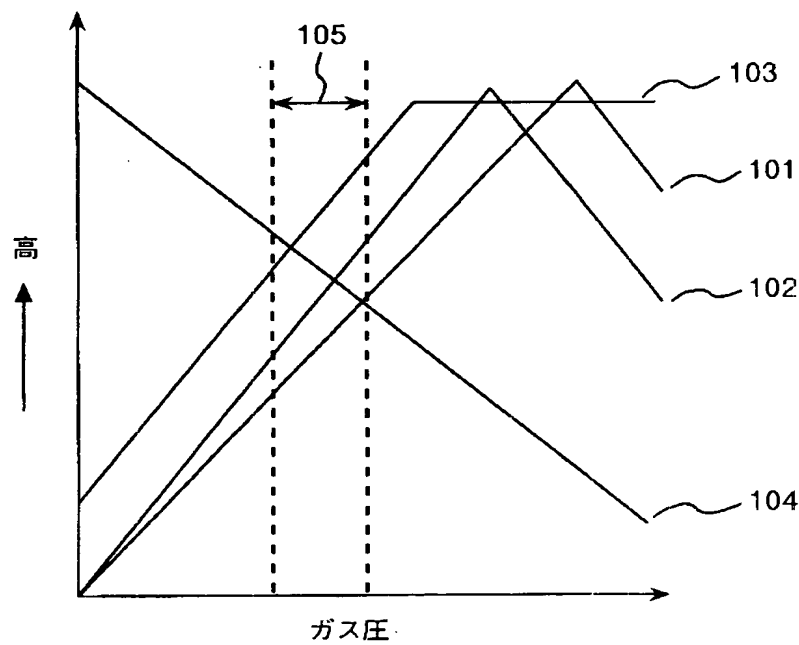
【図 2】

図 2



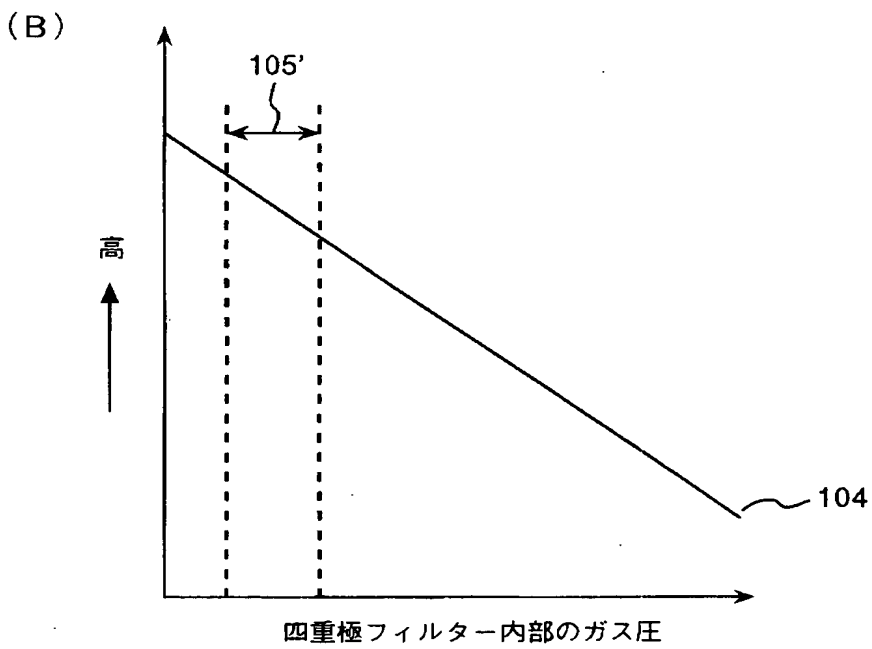
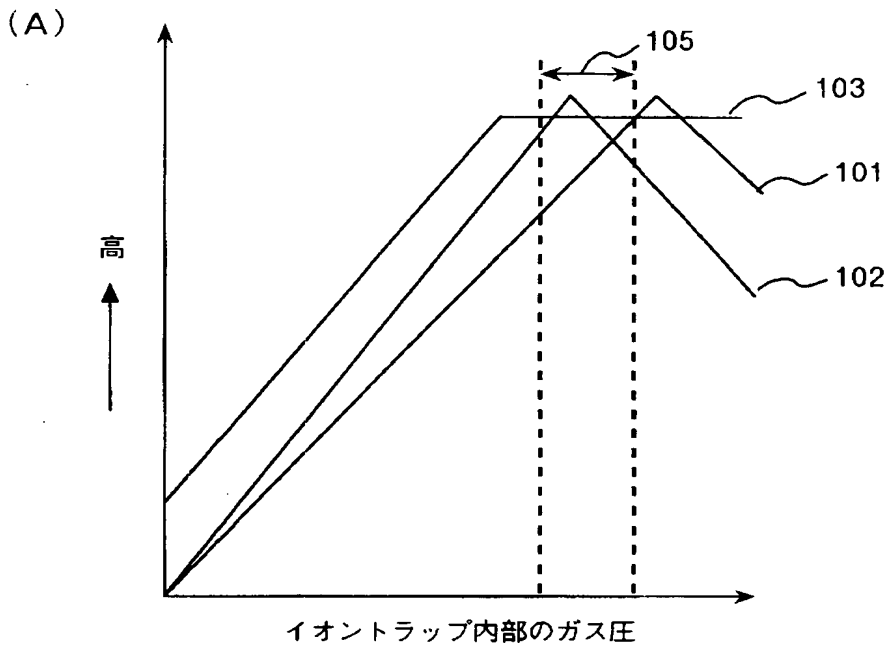
【図 3】

図 3



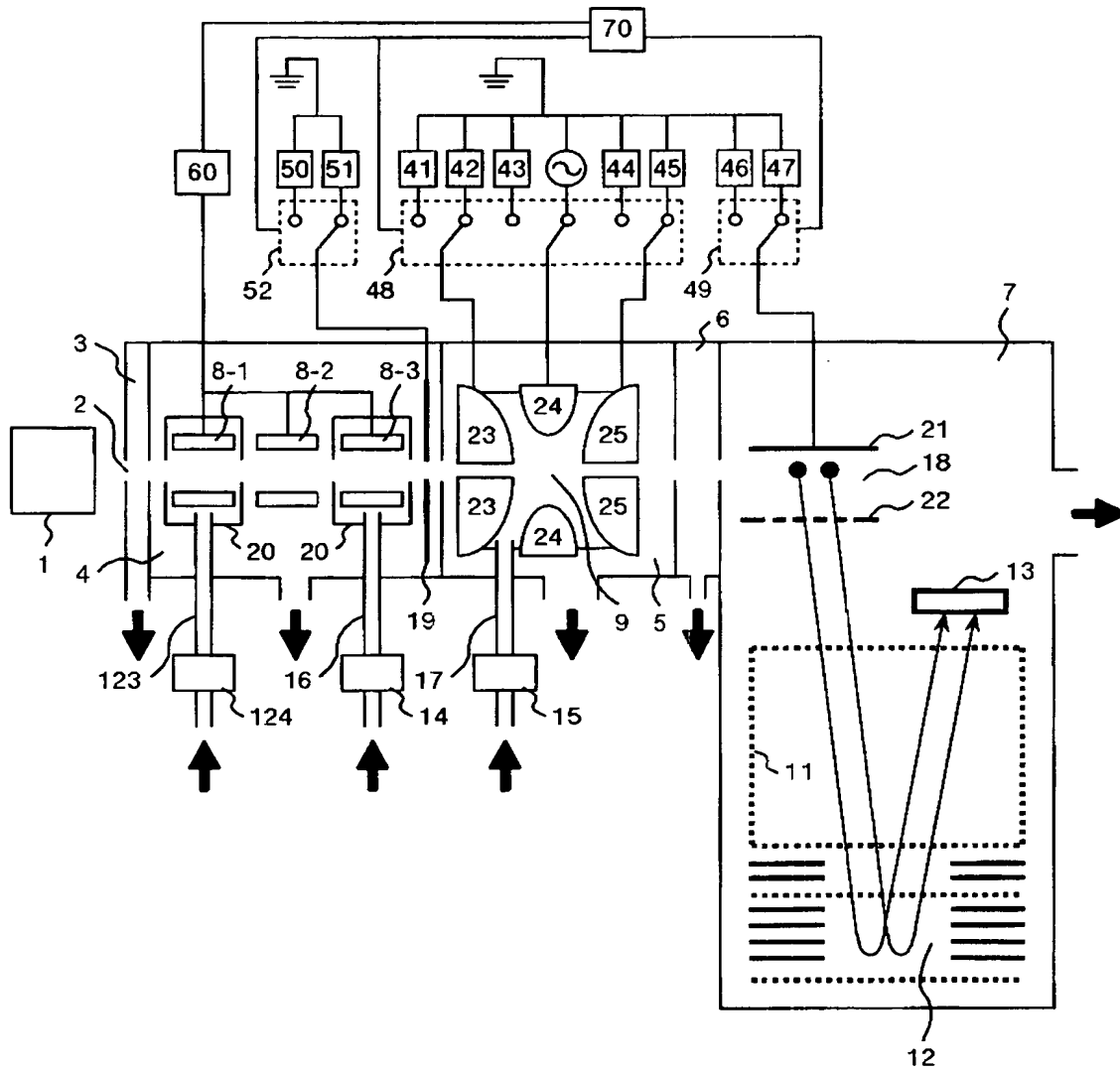
【図 4】

図 4



【図 5】

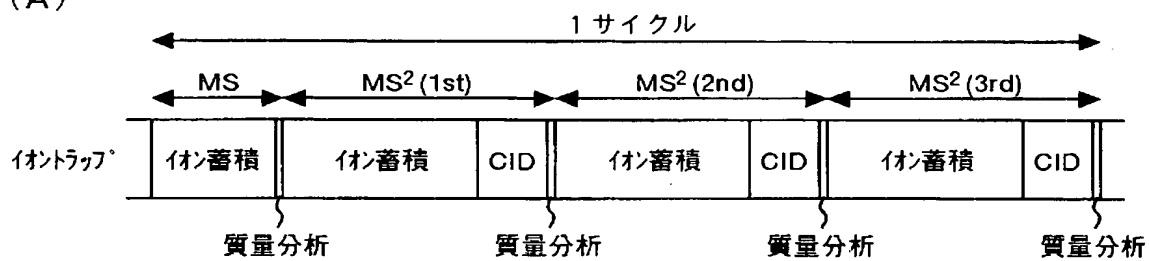
図 5



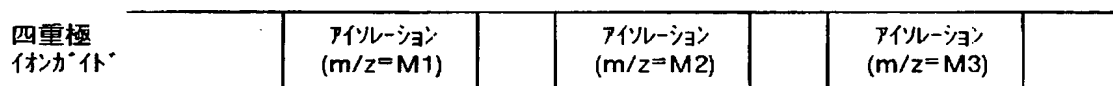
【図 6】

図 6

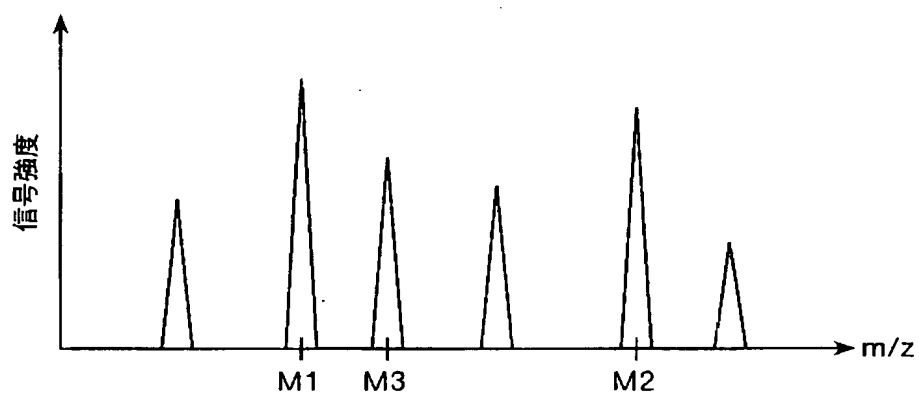
(A)



(B)

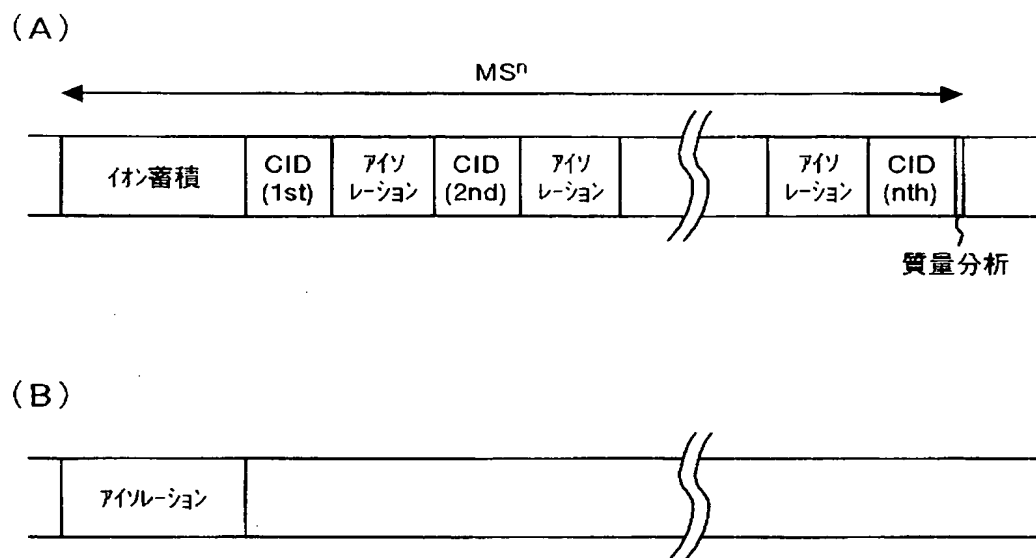


(C)



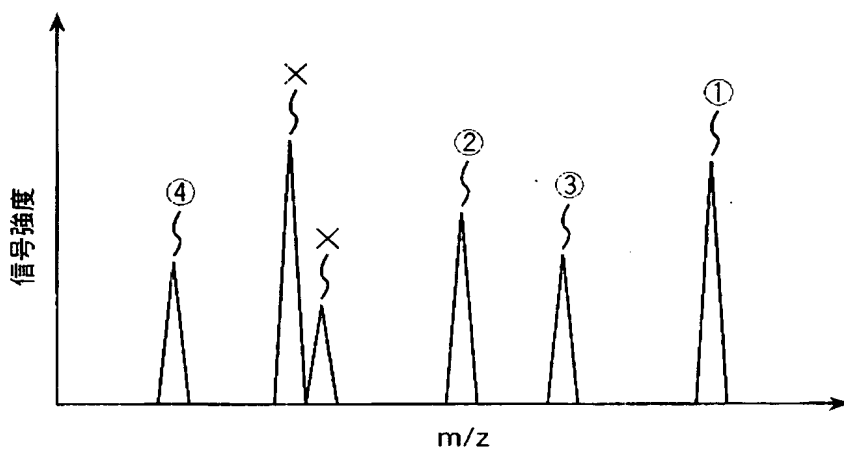
【図 7】

図 7



【図 8】

図 8



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】

イオン捕捉効率、質量分解能、及び、C I D 効率を同時にほぼ最大にし得る、イオントラップと飛行時間型質量分析計を非同軸に結合した質量分析装置を提供する。

【解決手段】

イオントラップと飛行時間型質量分析計とを非同軸に結合した質量分析装置であり、イオン源 1 とイオントラップ 9 の間に配置される質量フィルター 8 と、イオントラップ内部のガス圧と質量フィルターの内部のガス圧を独立に制御する手段とを有し、イオントラップの内部のガス圧が質量フィルターの内部のガス圧よりも高く設定される。

【選択図】 図 1

特願 2 0 0 3 - 0 4 5 3 4 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 0 1 3 8 7 8 3 9]

1. 変更年月日

2 0 0 1 年 1 0 月 3 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都港区西新橋一丁目 2 4 番 1 4 号

氏 名

株式会社日立ハイテクノロジーズ